

## Revisión

# Genotipos de Hepatitis B: Importancia clínica

Dilia Karina Martínez Méndez<sup>a</sup>, Luisa Barboza<sup>b</sup>, Rosaura C. Hernández Valles<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda (UNEFM). Coro, Estado Falcón

<sup>b</sup>Instituto de Inmunología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes. Mérida, Estado Mérida

<sup>c</sup>Laboratorio de Biología Molecular CIB. Cátedra de Microbiología (UNEFM). Coro, Estado Falcón  
Venezuela

Recibido 19 de Octubre de 2006; aceptado 25 de enero de 2007

---

**Resumen:** La infección por el Virus de Hepatitis B (VHB) representa un problema de salud pública a escala mundial, estimándose que más de dos millardos de personas en el mundo se han infectado, de los cuales aproximadamente 350 millones son portadores crónicos del virus. Cerca de un millón de muertes al año están relacionadas con hepatocarcinoma primario asociado a la infección por VHB, lo que hace a éste virus la cuarta causa de muerte por enfermedades infecciosas a nivel mundial. La replicación del VHB posee un potencial de variabilidad genética mayor que la de los virus ADN en general favoreciendo la aparición de mutantes naturales generadas por sustituciones puntuales, por reordenamiento de genes, o por cambios en los marcos de lectura denominados genotipos. La variabilidad genética podría estar asociada con las diferentes vías de transmisión, resistencia al interferón o progresión hacia el desarrollo de carcinoma hepatocelular.

**Palabras claves:** Hepatitis B, Genotipos, hepatocarcinoma

## Hepatitis B Genotypes: Clinical importance

**Abstract:** Hepatitis B virus (HBV) infection is a worldwide public health problem and it has been estimated that over 2000 million persons have been infected in the world, of approximately 350 million of which are chronic carriers of the virus. Around one million deaths per year are related to primary hepatic cancer associated to HBV infection, which makes this virus the fourth cause of death at a worldwide level. HBV replication has a greater potential of genetic variability than that of DNA viruses in general, favoring the occurrence of natural mutants generated by punctual substitutions, gene reordering, or to changes in the genotype denominated reading frames. Genetic variability could be associated with the various transmission forms, interferon resistance or progression towards the development of hepatocellular cancer.

**Keywords:** Hepatitis B, genotypes, hepatic cancer

---

\* Correspondencia:  
E-mail: dmartinezmendez@hotmail.com

### Introducción

Se han reportado más de siete virus pertenecientes a familias distintas causantes de hepatitis denominados A, B, C, D, E, F, G, TTV y Sen-V [1,2]. Sin embargo, la infección por el Virus de Hepatitis B (VHB) es una de las más importantes desde el punto de vista clínico y epidemiológico [3,4] representando un problema de salud pública a

escala mundial, estimándose que más de dos (2) millardos de personas en el mundo se han infectado, de los cuales aproximadamente 350 millones son portadores crónicos del virus y el principal reservorio viral a partir del cual se propaga la infección [3]. Esta cifra aún en la era de la vacunación ha aumentado, con cerca de un millón de muertes al año relacionadas con hepatocarcinoma primario asociado a la infección por VHB [5], lo que hace a este

virus la cuarta causa de muerte por enfermedades infecciosas a nivel mundial [3].

En la evolución de la hepatitis B, algunos individuos responden a la infección aguda con erradicación del virus y desarrollo de inmunidad permanente; otros se convertirán en portadores del mismo (reflejando una aparente deficiencia en la respuesta inmunitaria) con o sin hepatitis crónica activa, cirrosis y/o hepatocarcinoma [6]. El portador crónico del VHB presenta en su suero niveles variables del antígeno de superficie del VHB (AgsHB), así como anticuerpos específicos contra el core viral (anti-cHB). El antígeno e del VHB (AgeHB) se considera representativo de replicación viral activa, mientras que la seroconversión hacia el anticuerpo específico (anti-eHB) sugiere el cese de la misma [7].

La tasa de cronicidad de la infección por el VHB en adultos es de un 10%, mientras que en los niños infectados a partir de madres portadoras con expresión del AgeHB, no se observa remisión de la enfermedad en un 90% de los casos [8], debido probablemente a una respuesta inmunitaria deficiente en el neonato, pues se ha sugerido que el AgeHB, transmitido por vía transplacentaria induce tolerancia de las células T, tanto a AgeHB como al antígeno del core del VHB (AgcHB) en un modelo transgénico murino y transplado a humanos; ello podría predisponer a las células T del neonato a no reconocer a los antígenos del VHB como extraños sino como propios y evitar la respuesta inmunitaria [4]. La persistencia de la infección está relacionada con el desarrollo de hepatocarcinoma primario por mecanismos moleculares aún en discusión, cuya hipótesis plantea la combinación de dos mecanismos básicos: 1) La destrucción de las células y la estimulación de la mitosis celular y 2) El incremento de la inestabilidad cromosómica mediado por la recombinación proteica durante el transcurso de la hepatitis crónica [9].

La transmisión del VHB es principalmente horizontal: a) parenteral (transfusiones sanguíneas y derivados, adictos a drogas endovenosas, contacto con sangre luego de un accidente laboral), b) sexual y c) perinatal [10]. La transmisión vertical ocurre en niños nacidos de madres portadoras de antígeno e (AgeHB) o que han padecido de Hepatitis B en el tercer trimestre del embarazo [11].

### Biología del VHB

El Virus de Hepatitis B (VHB) es un hepadnavirus, cuyo virión completo (partícula de Dane) es de doble envoltura, esférico y de 42 nm de diámetro. La envoltura externa está compuesta por una bicapa lipídica obtenida por gemación de la membrana celular del hepatocito durante el ciclo replicativo del virus y glicoproteínas de la envoltura viral: Grande **L** (Large), Mediana **M** (Middle) y Pequeña o principal **S** (Small). La proteína **S** es el componente mayoritario de las partículas "vacías", que son envolturas incompletas, alargadas o esféricas, en donde no se detecta ADN viral, conocidas también como el AgsHB [12]. Estas partículas "vacías" o AgsHB, han permitido el desarrollo de métodos serológicos para la detección de la infección y han ofrecido un excelente medio para inducir inmunidad a través de la

vacunación con recombinantes genéticas de la partícula [2]. La envoltura interna o nucleocápside es ligeramente hexagonal y está conformada por proteínas de la cápside (conocidas también como antígeno de la cápside o core (AgcHB) y una forma no particulada de la misma, producto de la hidrólisis proteolítica del AgcHB, denominada antígeno e (AgeHB) que es secretada al suero durante la replicación viral [3-5,7].

Protegido por la nucleocápside se encuentra el material genético de tipo ADN con una longitud de aproximadamente 3200 bases, considerándose el genoma más pequeño de los virus que infectan al humano [13]. Es muy compacto y está conformado por ADN circular parcialmente de doble hebra: una larga (negativa) y una corta (positiva) de 20 – 80 % del tamaño de la negativa. [4]. A pesar de poseer un genoma de pequeño tamaño, codifica 7 proteínas estructurales a través de un gran solapamiento de sus genes, lo que evidencia el gran aprovechamiento del material genético [3]. El genoma del VHB posee 4 Marcos de Lectura Abiertos solapados (MALs) que codifican para las 7 proteínas estructurales: *gen P* (polimerasa), codifica para la ADN polimerasa con actividad de transcriptasa reversa; *gen C* (cápside), codifica para las proteínas de la nucleocápside (AgcHB). Este gen está precedido por una región corta pre-C que codifica la fracción no particulada del AgcHB, la proteína e (AgeHB); *el gen S* (superficie), codifica las glicoproteínas de la envoltura viral L, M y S (AgsHB) y *el gen X*, codifica una proteína reguladora de la expresión genética viral y celular [4, 14, 15]. El genoma de tipo ADN del VHB posee una variabilidad genética en general menor que la de los virus ARN, sin embargo, como característica propia, la replicación de este virus por acción de la ADN polimerasa (con actividad de transcriptasa reversa, sin autorreparación) de un intermediario ARN, le confiere un potencial de variabilidad genética mayor que la de los virus ADN en general [2]. Ello favorece la aparición de mutantes naturales generadas por sustituciones puntuales, por reordenamiento de genes, o por cambios en los marcos de lectura. Recientemente se ha descrito en pacientes coinfectados con diferentes genotipos del virus, lo cual sugiere la posibilidad de recombinación de los diferentes genomas durante el paso de transcripción reversa [3,5,16,17].

El VHB ofrece también restricciones para la aparición de mutantes, pues el amplio solapamiento de los MALs implica que la mutación para determinado gen puede ser letal para la correcta expresión de otro, por lo que la gran mayoría de los virus mutantes son defectivos y no viables; así las que logran mantenerse, representan para el virus una ventaja sobre la cepa salvaje [3,18].

### Genotipos del VHB

En los años 70 se describió, por métodos serológicos, la existencia de cuatro subtipos AgsHB según la expresión del **determinante antigénico común "a"**: *adw*, *adr*, *ayw*, *ayr*. Años después se identificaron cuatro subdeterminantes de *w* (1, 2, 3 y 4) y posteriormente se adiciona el determinante *q*, dividiéndose en *q*-positivos (+) y *q*-negativos

(-); así, se establece la variabilidad serológica a nivel del AgsHB y se clasifican en nueve subtipos diferentes para el *determinante antigénico común "a"*: *adw2*, *adw4*, *adr*, *ayw1*, *ayw2*, *ayw3*, *ayw4*, *ayrq+*, *ayrq-* [3]. Esta clasificación serológica prevaleció por años, hasta que en la década de los 80 se estableció la distribución geográfica de estos subtipos y se obtuvo la secuencia genómica completa de los aislados del VHB, observándose sustituciones múltiples a lo largo del genoma [3,19]. Análisis posteriores de secuencias completas demostraron la emergencia de otras diferencias en los subtipos aislados del VHB cuyas sustituciones genómicas basadas en una divergencia del 8% o más entre secuencias del genoma completo y de 4% o más del gen S, hicieron necesaria la clasificación genética del VHB distribuyéndolos en 8 *genotipos* denominados: A, B, C, D, E, F y G; el genotipo F se ha dividido a su vez en IV conglomerados basándose en la existencia de más del 4% de divergencia en la secuencia nucleotídica [20]. Estudios recientes, han descrito un amplio rango de divergencia entre los genotipos descritos (0,1 a 7,4% y 6,8 a 17,1% respectivamente) por lo que se ha propuesto considerar este hallazgo como un nuevo genotipo denominado "H" [21] sumando los 8 genotipos diferentes para el VHB; hecho considerado como un importante logro de la virología descriptiva [22].

La descripción de los distintos genotipos no representó una limitante en cuanto al diseño de la vacuna ya que todos los aislados genéticos poseen el **determinante antigénico común "a"** del AgsHB (de allí la denominación de "**común**") y los anticuerpos dirigidos contra este determinante, son generados en respuesta a la vacuna, y por ende confieren protección frente a los diferentes genotipos [23]. Sin embargo, se ha reportado la existencia de *variantes defectivas "a"* del VHB, debido a mutaciones puntuales en diversos residuos de los aminoácidos que componen al determinante antigénico "a" (del 120 – 147) [24], lo cual hace incapaz al virus de expresar el *determinante antigénico común "a"* del AgsHB, por lo que la respuesta inmunitaria provocada por la vacuna no sería efectiva, generando así mutantes de escape a la vacunación [3]. Existen en la literatura casos concretos mostrando fallas en la protección de la vacuna, y han sido descritos asociados a los genotipos A, B, C, D y E [25]. Es de hacer notar que en el **genotipo F** que circula en América, se han reportado mutaciones en el residuo 141; sin embargo, aún no hay datos sobre la aparición de mutantes de escape a la vacuna [3]. Al existir cada vez más evidencias moleculares sobre mutantes de escape a la vacuna, se plantean limitantes en esta medida de prevención, sobre todo en poblaciones expuestas a variantes autóctonas del virus, sugiriendo la necesidad de mejorar la vacuna actual [2], así como también la eficacia de los estudios comerciales para diagnóstico de la infección por VHB. Ello plantea el empleo de nuevas estrategias de laboratorio como las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos altamente sensibles (NAT) [4,26] y/o masificar las técnicas para detectar el ADN viral y no sólo los marcadores serológicos, adaptándolas a las variantes virales circulantes en el país. Igualmente, se han descrito mutantes pre-core que impiden al virus producir AgeHB, por lo que no son detectados mediante técnicas de inmunodiagnóstico y al no

existir seroconversión de AgeHB al anticuerpo contra el AgeHB (Anti-HBe), no se puede correlacionar con la clínica, debido a que esta seroconversión es indicio de recuperación, tanto de la infección como de la enfermedad aguda, mientras que en los portadores de AgsHB indica una baja carga viral, donde la replicación viral no es activa [4]. También se han descrito mutantes resistentes al tratamiento con análogos nucleósidos (lamivudina y famciclovir) y al interferón que están asociadas a mal pronóstico de la enfermedad [4]. Por todo lo planteado, se hace necesario mantener el estudio sistemático del comportamiento de estos genotipos virales, no sólo desde el punto de vista molecular, clínico o terapéutico sino también desde el punto de vista de la genética poblacional [13,27].

### Importancia clínico-epidemiológica

La epidemiología molecular ofrece herramientas de indudable importancia en el estudio de la infección por el VHB (hibridación molecular, secuenciación genómica y la reacción en cadena de la polimerasa) que permiten establecer las características de los genomas del VHB que circulan tanto en las poblaciones heterogéneas como en las étnicamente definidas, aportando así datos importantes sobre la evolución viral [28,29]. Estas herramientas han permitido a los científicos elaborar teorías sobre el origen y la evolución del VHB y otros hepadnavirus. Si se estima que el paso de los primeros pobladores del Nuevo Mundo a través del estrecho de Bering ocurrió hace 10.000 – 30.000 años [30], es posible que durante ese tiempo hayan emergido los nuevos genotipos del VHB a partir de la cepa progenitora del actual genotipo F, propia del continente Americano, por lo que se ha propuesto que el VHB es originario de este continente, ocurriendo posiblemente, una división posterior entre las cepas B y C por un lado y las cepas A, D y E por el otro [3,31]. La teoría desarrollada luego de la formación del árbol filogenético basado en la caracterización molecular de las secuencias de genomas completos del VHB revela una amplia divergencia del genotipo F con los otros genotipos y una gran cercanía filogenética entre VHB que infecta al mono lanudo endémico del Nuevo Mundo (Woolly Monkey Hepatitis B Virus, WMHBV), y secuencias del genotipo F aisladas en Colombia [3,22,32]. Por esta razón, el estudio de las variantes genéticas del VHB es uno de los temas de mayor actualidad en el campo de la virología [2].

El estudio de los distintos genotipos ha permitido establecer la distribución geográfica característica de cada uno de ellos evidenciándose que el **genotipo A** se encuentra principalmente en el viejo mundo (abarcando la costa norte y sur del Mediterráneo) y en algunos aislados de Estados Unidos; los **genotipos B y C** se reportaron en poblaciones del Sudeste Asiático y en países Árabes; el **genotipo D** se encuentra ampliamente distribuido por el mundo; el **genotipo E** en poblaciones del continente Africano; el **genotipo F** es descrito en poblaciones del continente Americano, sobre todo en poblaciones aborígenes, proponiéndose la posibilidad de que sea originario de las Américas. El **genotipo G**, descrito en poblaciones estadounidenses y France-

sas [3,21,22,24] y el **genotipo H**, recientemente descrito, propuesto al evidenciar divergencias genéticas entre los aislados del genotipo F y aislados pacientes provenientes de Nicaragua y de Los Ángeles, USA [21].

La prevalencia de la infección a nivel mundial varía dramáticamente en algunas zonas. Así, se observa como África tropical, (*genotipo E*), China y Sudeste de Asia, (*genotipo C*), América del Sur (países del Cono sur) (*genotipo F*) pertenecen a zonas de alta endemicidad para la infección por el VHB, con prevalencia que oscila entre un 8 - 20%. El este de Europa, USA (*genotipo A*) y Australia (*genotipo D*), pertenecen a la zona de baja endemicidad mostrando prevalencia entre 0,2 - 1 %. Por su parte, Asia Central, la India, (*genotipos B y C*) el oeste de Europa, la costa del Mediterráneo (*genotipo D*) y América central y países del Caribe (*genotipo F*) presentan niveles de prevalencia intermedia que oscila entre 2 - 7 % [10].

La importancia clínica y biológica de la diversidad de genotipo y la implicación en la generación de mutantes no está totalmente aclarada. Sin embargo, existen algunas evidencias de que la variabilidad genética podría estar asociada con las diferentes vías de transmisión, resistencia al interferón o progresión hacia el desarrollo de carcinoma hepatocelular [30,33]. Así, se ha reportado mayor incidencia de transmisión vertical con las cepas B y C, mientras que la transmisión horizontal temprana se presenta con mayor frecuencia en el genotipo E [3]. También, existen mutantes resistentes al tratamiento con los análogos nucleósidos y al interferón [4]. Igualmente se ha reportado que existen mutantes de escape a la vacuna asociadas con los genotipos A, B, C, D y E; con respecto al genotipo F, las investigaciones han sido escasas y aún no se han reportado fallas en la protección de la vacuna; sin embargo, se han descrito alteraciones en los residuos de aminoácidos necesarios para la unión de los anticuerpos protectores inducidos por la vacuna. Se considera que estas alteraciones favorecen la aparición de mutantes que pudieran escapar a la protección específica de la vacuna [3]. Actualmente en el desarrollo de vacunas de nueva generación incorporan las regiones pre-S1 y pre-S2 del AgsHB que contienen epítopes altamente antigénicos capaces de estimular la producción de anticuerpos anti-HBs aun en ratones no respondedores a las vacunas de primera generación [3].

### La infección por VHB en Venezuela

En Venezuela los niveles de prevalencia para la infección por VHB, reportan datos diversos según las ciudades y comunidades estudiadas. Existen tres [3] focos de alta endemicidad reportados en comunidades indígenas: etnias indígenas del Sur (Estados Amazonas y Barinas) [34,35]; indígenas del Delta Amacuro [36] e Indígenas del estado Zulia, como la etnia Yucpa donde la prevalencia oscila entre 5,6 y 9,6% [37]. En comunidades no indígenas como en el estado Barinas, se observa igualmente alta prevalencia [36]; en donantes de sangre del Banco Municipal de Sangre (Caracas) se ha reportado una prevalencia de 5,8% para anti-HBc y 0,71% para AgsHB [38]; en indígenas que habitan el Centro Luis Ordaz (Caracas), muestran prevalen-

cia intermedia (2,1%) para AgsHB [39]; por su parte, en el estado Anzoátegui, la prevalencia se ubica por debajo de la obtenida en otras ciudades de Venezuela (0,4% prevalencia para HBsAg) [40]. Estos datos sugieren que el nivel de prevalencia promedio en Venezuela es intermedio (2 -7%) [36].

Las variantes genéticas del VHB que circulan en poblaciones venezolanas han sido estudiadas parcialmente, en poblaciones heterogéneas donde la mezcla de razas es evidente, y en algunas zonas de Venezuela donde existen aún poblaciones que han evitado el mestizaje [41], bien sea por encontrarse en lugares retirados de las urbes, como ocurre en las poblaciones indígenas, o por características culturales, como ha sucedido en algunas poblaciones de origen africano tales como: Chuao (estado Aragua), Ganga y Panaquire (estado Miranda), entre otras [42], Macuquita y Macanillas (estado Falcón) [43]. La información filogenética hasta ahora reportada, es compatible con la hipótesis de que el genotipo F aislado en poblaciones afrovenezolanas fue introducido después de que los esclavos africanos llegaron a Venezuela [33], probablemente durante la mezcla de los esclavos con grupos amerindios a su llegada a Venezuela o aun antes, durante su paso por las islas del Caribe [33]. A pesar de las migraciones de grupos étnicos africanos en América durante el período de trata de esclavos, el genotipo E (africano) no ha sido reportado en este continente, coincidiendo con recientes estudios filogenéticos que sugieren un origen más reciente de este genotipo en África, posiblemente a través de la introducción zoonótica de un hepadnavirus chimpancé [33]. El análisis de las variantes genéticas que circulan en poblaciones **étnicamente definidas** (*indígenas y raza negra*) [41,44], puede aumentar la probabilidad de observar variantes autóctonas del VHB en esos grupos étnicos y de esta forma se pueda deducir como fueron introducidos o cuál es el origen del Virus de Hepatitis B en Venezuela y por extensión, en América del Sur [28].

### Referencias

1. Hallet R, Clewley J, Teo C. The Molecular Characterization of a Divergent TTV Genome. *Antiviral Ther* 2000; 5 (Suppl.1) pp G.10.
2. Pujol F. Biología de los Virus de Hepatitis. *Acta Cient Soc Ven Bioanal Esp* 2000; 6 (1-2):5-12.
3. Devesa M, Loureiro C. Variabilidad Genética del Virus de la Hepatitis B y sus implicaciones. *Acta Cient Soc Ven Bioanal Esp* 2000; 6(1-2):13-28.
4. Gutiérrez C. Infección oculta por el Virus de la Hepatitis B (VHB). *Acta Cient Soc Ven Bioanal Esp* 2000; 6 (1-2): 29-38.
5. Nassal M. Hepatitis B Virus Replication: Novel Roles for Virus - Host Interactions. *Intervirology*. 1999; 42: 100-16.
6. Pollack MS, Richs R. The HLA complex and the pathogenesis of infectious disease. *J Infect Dis* 1995;151:1-8.
7. Hernández R. Estudio de la Relación Existente entre Alelos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad Clase I y la Infección por el Virus de la Hepatitis B en la Etnia Barí de la Sierra de Perijá, Estado Zulia. [Tesis Doctoral]. Maracaibo: Universidad del Zulia; 2000.

8. Berger A, Doerr H., Weber B. Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis B Virus Infection in Pregnancy: Diagnostic Potential of Viral Genome Detection. *Intervirology* 1998; 41:201-7.
9. Hino O, Kajino K. Hepatitis Virus-Related Hepatocarcinogenesis. *Intervirology*. 1994; 37: 133-5.
10. Mantilla P. Diagnóstico Clínico de las Hepatitis. *Acta Cient Soc Ven Bioanal Esp* 2000; 6 (1-2): 66-79.
11. Papaevangelou G, Farmaki G, Kada H. Hepatitis B Maternal-Fetal Transmission in Southern Europe. *Intervirology*. 1996; 41:197-200.
12. Chacón P, Aponte C. Marcadores serológicos en las Hepatitis Virales. *Acta Cient Soc Ven Bioanal Esp* 2000; 6 (1-2): 53-65.
13. Carman W, Thomas H, Domingo E. Viral Genetic Variation: Hepatitis B Virus as a Clinical Example. *Lancet* 1993; 341: 349-52.
14. Koike K, Takada Sh. Biochemistry and Functions of Hepatitis B Virus X Protein. *Intervirology* 1999; 38: 89-99.
15. Lee W. Hepatitis B Virus Infection. *N Engl J Med* 1998; 337:1733-45.
16. Brunetto M, Aragon U, Bonino F. Hepatitis B Virus Mutans. *Intervirology* 1999; 42: 69-80.
17. Bowyer S, Sim J. Relationship Within and Between Genotypes of Hepatitis B Virus At Points Across the Genome: Footprints of Recombination in Certain Isolates. *J Gen Virol* 2000; 81 (2): 379-92.
18. Günther S, Fischer L. Naturally Occuring Variants of Hepatitis B Virus. *Adv Virus Res* 1999; 52:25-137.
19. Okamoto H, Tsuda F. Typing Hepatitis B Virus by Homology in Nucleotide Sequence: Comparison of Surface Antigen Subtypes. *J Gen Virol* 1988; 69: 2575-83.
20. Devesa M, Rodriguez C, Leon G, Liprandi F, Pujol FH. Clade analysis and surface antigen polymorphism of hepatitis B virus American genotypes. *J Med Virol* 2004; 72(3): 377-84.
21. Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson BH, Magnus LO. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol* 2002;83: 2059-73.
22. Magnus L, Norder H. Subtypes, Genotypes and Molecular Epidemiology of the Hepatitis B Virus as Reflected by Sequence Variability of the S-Gene. *Intervirology*. 1995; 38: 24-34.
23. Zuckerman A, Zuckerman J. Molecular Epidemiology of Hepatitis B Virus Mutants. *J Med Virol*. 1999, 58, 193 - 5.
24. Lindh M, Andersson A, Gusdal A. Genotypes, nt 1858 Variants, and Geographic Origin of Hepatitis B Virus-Large-Scale Analysis Using a New Genotyping Method. *J Infect Dis*. 1997; 175: 1285-93.
25. Coursaget P, Yvonnet B, Bourdil C, Mevelec MN, Adamowicz P, Barres JL, Chotard J, N'Doye R, Diop Mar I, Chiron JP HBsAg Positive Reactivity in man not due to hepatitis B virus. *Lancet* 1987; 12(2(8572))1354-8.
26. Gerlich W, Caspari G. Hepatitis Viruses and the Safety of Blood Donations. *J Viral Hepat* 1999; 6: 6-15.
27. Castro D, Arvelo H, Cisternas J. Estructura de población y factores influyentes en dos pueblos negros venezolanos. *América Negra* 1993; 5:37 - 47.
28. Pujol F, Khudyakov Y. Hepatitis G Infection in Amerindians and other Venezuelan high - risk groups. *J Clin Microbiol*. 1998; 36: 470-4.
29. Pujol F, Devesa M. Biología Molecular Aplicada al Campo de las Hepatitis Virales. *Gen*. 1997; 51, (2):75-84.
30. Gibbs Anne. The People of the Americas. *Science*. 1996; 274: 31-3.
31. Telenta P, Palacios G, López J, González J, Lemberg A, Campos, R. Increased Prevalence of Genotype F Hepatitis B Virus Isolates in Buenos Aires, Argentina. *J Clin Microbiol*. 1997; 35:1873-5.
32. Blitz L, Pujol F, Swenson P, Porto L, Atencio R, Araujo M y col.. Antigenic Diversity of Hepatitis B Virus Strains of Genotype F in Amerindians and Other Population Group From Venezuela. *J Clin Microbiol*. 1998; 36 (3): 648-51.
33. Quintero A, Martínez D, Alarcón de Noya B, Costagliola A, Urbina L, González N y col. Molecular epidemiology of hepatitis B virus in Afro-Venezuelan populations. *Arch Virol*. 2002; 147:1829-36.
34. Torres J, Machado I. Special Aspects of Hepatitis B virus and Delta-Virus. *Infect Dis Clin North Am*. 1994; 8: 13-27.
35. Torres J. Hepatitis B and Hepatitis Delta Virus infection in South America. *Gut*. 1996; 38 (suppl 2): S48-S55.
36. Echevarría J, Blitz-Dorfman L, Pujol F. Infección por los virus causantes de Hepatitis en poblaciones indígenas de Suramérica: Una revisión del problema. *Invest Clin*. 1996; 37(3): 1991-200.
37. Blitz L, Monsalve F, Atencio R, Porto L, Monzon M, Faradov M, Pujol F, Echevarría J. Serological Survey of Markers of Infection With Viral Hepatitis Among the Yukpa Amerindians From Western Venezuela. *Ann Trop Med Parasitol*. 1996; 90 (6): 655-7.
38. Pujol F, Rodriguez I. Viral Hepatitis Serological Markers among Pregnant Women in Caracas, Venezuela. Implication for perinatal transmission of Hepatitis B and C. *Gen* 1994; 48: 25-8.
39. Ponce J, Cárdenas L, García F, León G, Blitz-Dorfman L, Monsalve F, Pujol F. Alta Prevalencia de Marcadores de Hepatitis B y C en una Comunidad de Indigentes de Caracas, Venezuela. *Invest Clin*. 1994; 35 (3): 123-9.
40. Del Nunzio J, Brito J, Brazón S, Carpio C, Ledezma E, Pujol F. Prevalencia de marcadores serológicos para Hepatitis B y C en pacientes Gestantes del Hospital Universitario "Dr. Luis Razetti" de Barcelona, estado Anzoátegui. *GEN*. 1997; 51: 226-9.
41. Rodríguez A, Castro D, González M, Morales J. Frecuencia Génica y porcentaje de Mezcla en Diferentes Áreas Geográficas de Venezuela, de Acuerdo a los Grupos Rh y ABO. *Interciencia*. 2001; 26 (1): 8-12.
42. Castro D, Arvelo H, Rodríguez A, Salzano F. Genetic Study in Panaquire, a Venezuelan Population. *Hum Hered*, 1996. 46 . 323-8.
43. Red Afroalcaniana. José Leonardo Chirinos. Asociación Cultural "José Leonardo Chirinos", 2000. Folleto.
44. Bortolini M, Da Silva W, Castro D, Remonato G, Mirandola R, Hutz M y col. African-derived South American Populations: A History of Symmetrical and Asymmetrical Matings According to Sex Revealed by Bi- and Uniparental Genetic Markers. *Am J Hum Biol*. 1999; 11:551-63.